

2006. évi szakmai jelentés dr Hild Gábor D 048545 ny. számú, „Egyes humán betegségek hátterében álló citoskeletális rendellenességek alapjainak vizsgálata biofizikai módszerekkel” című posztdoktori pályázathoz

A beszámolási időszakban tovább folytatódott az aktin szerkezeti és dinamikai tulajdonságainak feltérképezése fluoreszcencia spektroszkópai módszerekkel. Vizsgálataim célja annak eldöntése volt, hogy a miozinon kívül egyéb, az aktinnal szoros funkcionális kapcsolatban álló fehérjék hatását feltérképezem.

Egy speciális, az aktinhoz kötődni képes, és a polimerizáció nukleációs lépését elősegítő fehérje a formin. Vizsgálataink során kimutattuk, hogy az aktin flexibilitását a formin jelenléte képes megnövelni, és a kialakult flexibilitás növekedést az aktin termodinamikai stabilitásának csökkenése kíséri. Eredményeink alapján felállítottunk egy modellt, mely szerint ha a formin az aktin végéhez kötődik, akkor az flexibilitás növekedést eredményez, míg ha az oldalához, akkor a protomerek közötti kapcsolat erősödése figyelhető meg. Eredményeink közzésre kerültek.

Az aktinkötő fehérjék egy speciális csoportját képezik a monomer-kötő fehérjék, melyeknek fontos szerepe van az aktin-citoskeleton működésének szabályozásában. Az emberi izomban található egyik aktinkötő fehérje a kofilin, mely képes felgyorsítani az aktin polimerizációja során mind a nukleáció, mind pedig az elongáció folyamatát, és emellett képes a felépült filamentumokat stabilizálni is. A profilin egy további aktinkötő fehérje, mely elősegíti a monomerek beépülését az aktin filamentum egyik végén. A depolimerizáció során ledisszociáló ADP-t tartalmazó aktinhoz kötődve képes felgyorsítani ezen monomereken a nukleotid kicserélődését ATP-re. Fluoreszcencia spektroszkópai vizsgálatok segítségével arra a kérdésre kerestem a választ, hogy miként befolyásolják a fent említett aktinkötő fehérjék az aktin nukleotidkötő zsebének szerkezetét. Munkám során az aktin monomerhez egy fluoreszcens nukleotid analógot (ϵ -ATP) kötöttem, majd semleges kioltó (akrilamid) jelenlétében vizsgáltam a fluoreszcencia kioltásának mértékét. Az eredmények kiértékelése során a klasszikusan használt Stern-Volmer egyenletet témavezetőm segítségével átdolgoztam, miáltal az aktinhoz kötött és a szabadon lévő ϵ -ATP molekulákból származó információt el tudtuk különíteni. Eredményeink azt mutatták, hogy a kofilin jelenléte lecsökkentette a fluorofór hozzáférhetőségét az akrilamid számára, ami a nukleotidkötő zseb becsukódását, kompaktabbá válását jelezte. Ezzel szemben a profilin kötődése megnövelte az ATP-kötő zseb oldat felé mutatott hozzáférhetőségét. Ez a megfigyelés arra utalt, hogy az aktin monomer szerkezete profilin hatására átrendeződik, elősegítve ezzel a profilin által kiváltott

nukleotid kicserélődés folyamatát. Az elért eredményeink tudományos folyóiratban történő megjelentetése folyamatban van.